



Acta Scientiarum. Health Sciences

ISSN: 1679-9291

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Brasil

Sekine Takashiba, Ken; Segatelli, Tânia Mara; Franzói de Moraes, Solange Marta; Marçal Natali, Maria Raquel

Morfologia testicular de ratos Wistar obesos sedentários e submetidos a treinamento físico

Acta Scientiarum. Health Sciences, vol. 33, núm. 1, 2011, pp. 25-33

Universidade Estadual de Maringá

Maringá, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=307226628007>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Morfologia testicular de ratos Wistar obesos sedentários e submetidos a treinamento físico

Ken Sekine Takashiba¹, Tânia Mara Segatelli², Solange Marta Franzói de Moraes¹ e Maria Raquel Marçal Natali^{1*}

¹Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. ²Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: mrmnatali@uem.br

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi avaliar morfológicamente os efeitos da dieta de cafeteria e o treinamento físico em esteira sobre o testículo de ratos Wistar. Ratos machos adultos foram divididos em grupos (sedentário-controle; sedentário-cafeteria; treinado-controle; e treinado-cafeteria). Para comprovar a instalação da obesidade calculou-se o índice de Lee e o peso dos tecidos adiposos periepididimal e retroperitoneal. A análise testicular envolveu o peso da gônada e após processamento histológico e coloração por Hematoxilina-Eosina, os parâmetros de diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero, identificação dos tipos celulares presentes nos túbulos seminíferos, contagem de células e rendimento geral da espermatozoogênese. O aumento significativo do Índice de Lee e do peso dos tecidos adiposos, nos grupos que receberam dieta de cafeteria, comprovou a instalação da obesidade e indicou ser este um modelo adequado para induzir obesidade experimental. Não houve efeito da dieta ou do treinamento sobre o peso testicular, diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero não havendo também diferenças na organização histológica dos testículos e túbulos seminíferos. Após quantificação celular e cálculo dos índices mitótico e meiótico e da capacidade total de suporte das células de Sertoli, verificamos efeito positivo do treinamento físico, independente da dieta recebida, sobre o rendimento geral da espermatozoogênese.

Palavras-chave: espermatozoogênese, morfometria, obesidade, túbulos seminíferos.

ABSTRACT. **Testicular morphology in obese and sedentary Wistar rats submitted to physical training.** The aim of this study was to morphologically evaluate the effects of the cafeteria diet and physical training on the testicles of adult Wistar rats. Adult male rats were divided into groups (sedentary-control, sedentary-cafeteria, trained-control, and trained-cafeteria) In order to state the obesity condition both the Lee index and the weight of retroperitoneal and periepididymal adipose tissues were calculated. The testicular analysis involved the gonad weight and after the histological processing the Hematoxylin-Eosin staining parameters of tubular diameter, height of seminiferous epithelium, identification of the cellular sorts in the seminiferous tubules, counting of cells and overall output of spermatogenesis were done. The significant increase in the Lee index and the adipose tissue weight, in groups which received the cafeteria diet, stated the obesity condition indicating that this model is adequate to induce experimental obesity. There was no effect either from diet or training on the testicular weight, tubular diameter and height of seminiferous epithelium and also no difference in the histological organization of testicles and seminiferous tubules. After cellular quantification and being calculated both mitotic and meiotic index and total capacity of Sertoli cells, it was verified a positive effect of the physical training, regardless of diet, on the overall output of spermatogenesis.

Keywords: spermatogenesis, morphometry, obesity, seminiferous tubules.

Introdução

O testículo é um órgão complexo constituído morfológicamente de dois compartimentos: *intersticial* ou *intertubular*, contendo células e fibras do tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos e células de Leydig (principal fonte de andrógeno) e *tubular*, contendo túbulos seminíferos, no interior dos quais há a formação do gameta masculino, processo

denominado de espermatozoogênese (RUSSELL et al., 1990).

A espermatozoogênese não é um processo aleatório, sendo regulada por secreções parácrinas de células adjacentes ao epitélio seminífero e pelo complexo eixo hipotálamo-hipófise-testículo. Dentre a regulação intrínseca, destacam-se as células de Sertoli, portadoras de dobras complexas em seu plasmalema e junções de oclusão em suas

membranas laterais, subdividindo o epitélio seminífero em dois compartimentos: basal, contendo espermatogônias e espermatócitos primários e adluminal, contendo espermatócitos primários tardios, espermatócitos secundários, espermátides e espermatozoides.

Percebe-se, no epitélio seminífero, uma organização fixa e bem definida, de tipos celulares. O conjunto completo de estágios, organizados em seqüência progressiva do desenvolvimento das células germinativas em um dado segmento do túbulo seminífero, é denominado Ciclo do Epitélio Seminífero (CES). O padrão cíclico é marcado por evolução progressiva e sincronizada de células espermatogênicas individuais e translocação concomitante das mesmas do compartimento basal para o adluminal do túbulo (CLERMONT, 1972; FRANÇA; RUSSELL, 1998; RUSSELL et al., 1990).

No estudo da cinética espermatogênica, a enumeração dos tipos celulares presentes nos diversos estágios permite acompanhar, em termos quantitativos, a evolução de cada tipo ao longo do ciclo. Classicamente, três índices são realizados para avaliar as diferentes fases da espermatogênese: coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais, o qual quantifica o grau de perdas celulares na fase proliferativa; rendimento meiótico, que avalia a eficiência das duas divisões meióticas; e rendimento geral da espermatogênese, que avalia a eficiência do processo espermatogênico como um todo (GODINHO, 1999).

Durante a espermatogênese, as células germinativas e as células de Sertoli interagem de maneira complexa. Estudos mostram que o número de células de Sertoli por testículo é o principal fator de determinação da produção espermática e do tamanho desse órgão (ORTH et al., 1988), baseado no fato de que as células de Sertoli têm capacidade de suporte de células germinativas relativamente fixas para cada espécie (FRANÇA; RUSSELL, 1998; ORTH et al., 1988). Desta forma, o número de células germinativas (principalmente espermátides) suportadas por uma única célula de Sertoli é o melhor indicativo da eficiência funcional destas (FRANÇA; RUSSELL, 1998). Considerando que a população de células de Sertoli é estável ao longo dos estágios do ciclo, elas têm sido utilizadas numericamente como ponto de referência para a quantificação e correção de contagens de células germinativas, propiciando a base para estudos de alterações no processo espermatogênico (CLERMONT; MORGENTALER, 1955). Assim, os índices de células de Sertoli correspondem às

razões entre o número de células germinativas e o número de células de Sertoli (RUSSELL et al., 1990; SEGATELLI et al., 2004; SINHÁ-HIKIM et al., 1985).

O estado nutricional afeta a função reprodutora de mamíferos (WADE; SCHNEIDER, 1992; WADE et al., 1996). Embora a função gonadal normal que resulta na puberdade seja controlada primariamente por gonadotrofinas, foi demonstrada a relação entre quantidade de gordura corporal na fêmea com a puberdade e a manutenção da fertilidade nos humanos (FRISCH; REVELLE, 1970) e em roedores (CHEUNG et al., 2001; FOSTER; NAGATANI, 1999; WADE; SCHNEIDER, 1992). Sharpe e Franks (2002) demonstraram que a nutrição afeta a função reprodutora nos adultos tanto em nível das gonadotrofinas como das gônadas, através da ação não só da leptina, mas também da insulina. Estudos clínicos relatam que tanto indivíduos adultos obesos como os com baixo peso corpóreo apresentam perturbações na função reprodutora, o mesmo tendo sido verificado em roedores.

A exposição a dietas ricas em gorduras por períodos prolongados resulta em balanço energético positivo e obesidade em modelos experimentais com roedores, sendo considerado um modelo de obesidade humana. Uma dieta com alto teor de gordura e carboidratos similar à de *fast food* (dieta de cafeteria) tem implicações pronunciadas no desenvolvimento de obesidade, levando a um ganho de peso e deposição de gordura corporal. Assim a obesidade induzida por dieta de cafeteria reflete um modelo de obesidade animal não genético.

Yang et al. (2005) induziram obesidade em ratos através de dieta hipercalórica durante seis semanas e avaliaram o desenvolvimento testicular nestes animais. Além das taxas de testosterona e estradiol estarem significativamente menores, a morfologia testicular apresentou alterações, sendo que os túbulos seminíferos não se encontravam bem desenvolvidos e suas camadas celulares organizadas de forma esparsas e atípicas.

Considerando a relação entre a obesidade e distúrbios na função reprodutora, o objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros morfométricos que envolvem a organização testicular e a eficiência da espermatogênese de ratos adultos sedentários tornados obesos pela administração de dieta de cafeteria e submetidos a treinamento físico.

Material e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade

Maringá, v. 33, n. 1, p. 25-33, 2011

Estadual de Maringá (UEM) (protocolo 017/2007). Foram utilizados 28 ratos machos adultos da linhagem Wistar, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, distribuídos conforme a dieta recebida e condição ou não de sedentarismo em 4 grupos: Sedentário-Controle (SC), Sedentário-Cafeteria (SCa), Treinado-Controle (TC) e Treinado-Cafeteria (TCa), sendo mantidos em tratamento com ciclo de iluminação claro/escuro de 12/12 horas por 4 meses.

Alimentação e treinamento

Os animais dos grupos controle (SC e TC) foram alimentados com ração Nuvilab® (recomendado pelo National Research Council e National Institute of Health-USA) e água *ad libitum*. Os animais do grupo cafeteria (SCa e TCa) receberam uma dieta hiperlipídica, que consistia em pellets comuns da dieta padrão e inclusão diária de alimentos como: chips, chocolates, marshmallow, geléia de mocotó, salsichas, pão francês, bacon, bolachas. Os animais tiveram livre acesso aos alimentos, água e refrigerantes. Os percentuais de macronutrientes (proteínas e lipídeos) e fibras, contidos nas dietas, foram fornecidos pelo Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia (UEM). O consumo da dieta em gramas e de calorias foi monitorado diariamente (estimado a partir da pesagem das sobras) e o consumo de líquidos e peso corporal monitorados três vezes/semana e duas vezes/semana, respectivamente.

Após 30 dias da introdução da dieta, os animais, com a idade de 100 dias, iniciaram o exercício físico, de intensidade moderada, por um período de 12 semanas, que consistia de corrida em esteira ergométrica programável (Inbrasport®), no período das 16:30 às 18:30 horas, precedida por uma semana de adaptação dos animais à esteira que consistia em sessões de 10 minutos de duração e velocidade variando de 0,3 a 0,6 km h^{-1} . O protocolo de treinamento (DUFLOTH et al., 1997) consistiu de corridas 5 vezes/semana (IWAMOTO et al., 1999) com variações de 15 a 60 minutos de treinamento e intensidade variando com acréscimos na velocidade que variou de 0,3 a 1,4 km h^{-1} , não ocorrendo alteração da inclinação da esteira.

Coleta de órgãos e processamento histológico dos testículos

Aos 190 dias de idade os animais foram pesados e mortos sob condição de repouso, por dose letal do anestésico tiopental sódico - Thionembutal® (40 mg kg^{-1} ; via intraperitoneal). A seguir foi medido o comprimento naso-anal e retirados os tecidos adiposos retroperitoneal e periepididimal para pesagem. A instalação da obesidade foi comprovada com essas

medidas e o cálculo do índice de Lee (Peso corporal $^{1/3}$ (g)/Comprimento naso-anal(cm) x 1000).

Também foram coletados os dois testículos de cada animal, pesados e fixados em líquido de Bouin e mantidos em álcool 70% por uma semana. Em seguida as amostras foram desidratadas utilizando-se série crescente de álcool, diafanizadas em xitol e, por fim, incluídas em parafina. Os blocos de parafina foram cortados com 6 μm de espessura, semi-seriados e corados pelo método da hematoxilina-eosina para análise morfométrica.

Análise morfométrica dos testículos

Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero

O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi obtido a partir das medidas de 30 secções transversais de túbulos seminíferos/corte, perfazendo um total de 120 medidas/animal. Túbulos seminíferos com contorno regular foram utilizados para medir o diâmetro e para medir a altura do epitélio germinativo (camada basal até o início da luz do túbulo), com ocular micrométrica Olympus 10 x, acoplada em objetiva de 10 x. A altura do epitélio seminífero foi obtida a partir da média das alturas em 30 secções transversais de túbulos seminíferos/corte, perfazendo um total de 120 medidas/animal. O fator de correção para objetiva de 10 x, utilizada no cálculo final para obtenção das médias foi de 10,26 μm . O método de medida é demonstrado na Figura 1.



Figura 1. Fotomicrografia de secção transversal de túbulo seminífero. D: diâmetro do túbulo seminífero; A: altura do epitélio seminífero. Rato do grupo Treinado-Controle (TC). HE. Aumento de 400 x.

Caracterização dos estágios do Ciclo do Epitélio Seminífero (CES)

As análises dos estágios do CES foram realizadas de acordo com o método proposto por Leblond e Clermont (1952) e Hess et al. (1990), baseado na

formação e no desenvolvimento do sistema acrossônico das espermátidess.

População celular do estágio VIII do CES

A contagem dos diversos tipos celulares presentes no estágio VIII foi obtida de 10 secções transversais de túbulos regulares. Os seguintes tipos celulares foram contados: nucléolos de células de Sertoli (CS); espermatogônia do tipo A (SPG A); espermatócito I em paquíteno (SP I); e espermátidess redondas (SP R). Todos os resultados foram corrigidos para o diâmetro nuclear e para a espessura do corte histológico, utilizando-se a fórmula de Abercrombie (1946), modificada por Amann (1970).

O diâmetro nuclear médio foi obtido com auxílio da ocular micrométrica Olympus 10x, acoplada à objetiva de 100x. No caso de núcleos ligeiramente ovóides (como de SPG A), o diâmetro nuclear foi obtido pela média de seus diâmetros maior e menor. Os números de células de Sertoli foram corrigidos para o diâmetro nucleolar e para a espessura dos cortes histológicos. Para isto, foram utilizados somente células com nucléolo evidente, os quais tiveram seus diâmetros medidos.

Razões entre números celulares

Com o objetivo de avaliar a eficiência da espermatogênese e das células de Sertoli, foram calculadas razões entre números corrigidos de células da linhagem germinativa e entre esses números e a contagem corrigida de células de Sertoli. Segue-se a relação dos índices:

- Capacidade total de suporte das Células de Sertoli = SP R / CS.
- Coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais (índice mitótico) = SP I / SPG A.
- Índice meiótico: SP R / SP I.
- Rendimento geral da espermatogênese = SP R / SPG A.

Para melhor representação dos índices mitótico e meiótico, optou-se por apresentar também seus valores em porcentagens, indicando, dessa forma, qual a eficiência desses processos frente ao potencial teórico e ao processo apoptótico.

Análise Estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância seguido do pós-teste de Tukey, prefixando-se o nível de significância em 95% ($p < 0,05$), com auxílio do programa estatístico Prism, v. 4.00 (GraphPad, EUA).

Resultados e discussão

Os resultados referentes ao consumo alimentar, consumo calórico, consumo de líquidos e percentuais de macronutrientes e de fibras das dietas são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Consumo alimentar (CA g⁻¹) e calórico (CC kcal⁻¹), percentual de macronutrientes (proteínas – PTA e lipídeos - LIP) e fibras, consumo de água (Ca mL⁻¹), refrigerante (Cr mL⁻¹) e consumo total de líquidos (Ct mL⁻¹) nos ratos dos grupos: sedentário-controle (SC), sedentário-cafeteria (SCa), treinado-controle (TC) e treinado-cafeteria (TCa). Valores apresentados como média ± desvio padrão ($n = 7$ grupo⁻¹).

| Variáveis | SC | SCa | TC | TCa |
|----------------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| CA (g) | 25,92 ± 2,52 | 25,32 ± 4,41 | 24,41 ± 1,79 | 26,65 ± 5,02 |
| CC (kcal) | 101,10 ± 8,83 | 89,63 ± 14,63 | 95,24 ± 7,01 | 95,48 ± 15,88 |
| PTA (%) ^a | 22,23 | 9,98 | 22,23 | 9,98 |
| LIP (%) ^a | 4,00 | 16,22 | 4,00 | 16,22 |
| Fibra ^a | 5,73 | 1,46 | 5,73 | 1,46 |
| Ca (mL) | 40,19 ± 10,55 | 14,98 ± 7,09 | 39,90 ± 9,87 | 13,72 ± 6,57 |
| Cr (mL) | - | 24,62 ± 13,40 | - | 27,22 ± 13,11 |
| Ct (mL) | 40,19 ± 10,55 | 39,60 ± 16,69 | 39,9 ± 9,87 | 40,94 ± 14,65 |

^aLaboratório de Nutrição Animal (LANA).

A dieta de cafeteria caracterizou-se como hiperlipídica, hipoprotéica, isocalórica e com quantidade de fibras reduzidas. Dietas com elevado teor de lipídeos oferecidos a roedores são descritas (BURNEIKO et al., 2006; ESTADELLA et al., 2004; MILAGRO et al., 2006; SEFCÍKOVÁ et al., 2008), inclusive com manutenção do consumo calórico (ESTADELLA et al., 2004). Esse modelo se assemelha à obesidade humana, no qual se utiliza uma dieta que possui alto valor de lipídeos com excesso de carboidratos ou de gordura ou associação de ambos (BURNEIKO et al., 2006; ESTADELLA et al., 2004; KRETSCHMER et al., 2005; MILAGRO et al., 2006; PLANAS et al., 1992).

A ausência de diferença significativa no consumo alimentar entre os grupos indica que a dieta e o treinamento físico não alteraram o comportamento alimentar dos animais, os quais se revelaram normofágicos, apesar da dieta de cafeteria ser altamente palatável, diferindo dos resultados obtidos por West e York (1998) e Burneiko et al. (2006) que obtiveram, respectivamente, hiperfagia e hipofagia em roedores alimentados com dieta semelhante. O consumo total de líquidos foi similar entre os grupos, porém o consumo de refrigerante nos grupos SCa e TCa foi superior ao consumo de água. Quanto ao treinamento os resultados foram semelhantes ao observado em camundongos treinados em esteira por De Lira et al. (2008) e discordantes da redução de consumo alimentar verificado em ratos que correram em roda (ECKEL; MOORE, 2004) ou que praticaram natação

(BURNEIKO et al., 2006). Desta forma não constatamos o efeito anorexígeno atribuído ao exercício físico (IMBEAULT et al., 1997).

Em nosso experimento, o tratamento com dieta de cafeteria por um período de 120 dias, fez com que o excesso de lipídeos (KRETSCHMER et al., 2005) e a quantidade reduzida de fibras (PLANAS et al., 1992) presentes nos alimentos promovessem um aumento do peso corporal uma vez que os animais normoalimentados (que ingeriram menor percentual lipídico e maior percentual de fibras) apresentaram pesos menores em comparação com a cafeteria. A fibra alimentar produz saciedade devido à distensão mecânica do estômago, aumenta o trânsito intestinal e auxilia a eliminar nutrientes, contribuindo para diminuir o peso corporal.

A Tabela 2 apresenta os resultados de índice de Lee e peso dos testículos e dos tecidos adiposos retroperitoneal e periepididimal. O índice de Lee (BERNARDIS; PATTERSON, 1968), análogo ao índice de massa corporal, apresentou-se significativamente elevado, comprovando a obesidade com a dieta de cafeteria. Não encontramos influência do treinamento físico no peso corporal comparando-se ratos normoalimentados (SCOMPARIN et al., 2006), ou comparando-se animais que receberam a dieta hiperlipídica (CHAPADOS et al., 2008).

Tabela 2. Índice de Lee (peso corporal^{1/3} / comprimento nasoanal x 1000), peso dos tecidos adiposos retroperitoneal (TAR) (g) e periepididimal (TAP) (g) e dos testículos (g) para os grupos sedentário-controle (SC), sedentário-cafeteria (SCa), treinado-controle (TC) e treinado-cafeteria (TCa). Valores apresentados como média ± desvio-padrão (n = 7 grupo⁻¹).

| Variáveis | SC | SCa | TC | TCa |
|----------------------------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| Índice de Lee ¹ | 304,85 ± 7,90 | 321,28 ± 11,43 | 306,44 ± 5,28 | 325,37 ± 8,22 |
| TAR ² (g) | 6,32 ± 1,95 | 18,71 ± 5,25 | 4,27 ± 0,94 | 16,32 ± 2,57 |
| TAP ³ (g) | 5,59 ± 2,02 | 12,49 ± 3,71 | 3,51 ± 0,46 | 10,13 ± 2,01 |
| Peso Testicular ⁴ (g) | 2,88 ± 0,29 | 2,71 ± 0,33 | 2,91 ± 0,24 | 2,88 ± 0,22 |

¹SC x SCa e TC x TCa (p < 0,01); SC x TCa (p < 0,001); SCa x TC (p < 0,05). ²SC x SCa, SC x TCa, SCa x TC e TC x TCa (p < 0,001). ³SC x SCa, SCa x TC e TC x TCa (p < 0,001); SC x TCa (p < 0,01). ⁴Para todas as comparações p > 0,05.

O peso dos tecidos adiposos também é um indicador de obesidade. A dieta de cafeteria ofertada também resultou em aumento do peso dos tecidos adiposos retroperitoneal, periepididimal, o que está em conformidade com vários autores (ESTADELLA et al., 2004; KRETSCHMER et al., 2005; MILAGRO et al., 2006; PLANAS et al., 1992). Este aumento envolve diretamente a celularidade do

tecido, uma vez que dietas ricas em carboidratos e/ou lipídios para ratos promovem aumento no tamanho e no número de adipócitos (FONSECA-ALANIZ et al., 2007; JÉQUIER, 2002).

Com relação ao treinamento, tanto no grupo TC quanto TCa os estoques de tecido adiposo foram reduzidos, porém sem significância estatística. Redução significativa foi obtida com associação simultânea de dieta hiperlipídica e corrida em esteira (CHAPADOS et al., 2008) e natação (ESTADELLA et al., 2004) em ratos, e nos permite inferir efeito positivo do treinamento físico, evidenciando a importância da inserção simultânea de uma dieta equilibrada e do exercício físico no controle da massa adiposa.

O peso dos testículos, parâmetro que não sofreu alterações significativas, é importante na avaliação andrológica dos mamíferos, reflete sua normalidade e também permite inferir a taxa de produção espermática (AMANN, 1970; FRANÇA; RUSSELL, 1998). De maneira geral, não existe correlação significativa entre tamanho do testículo e peso corporal. Segundo Hess et al. (1993), para cada espécie, seu tamanho é determinado por vários fatores além da influência primária do tamanho corporal, sendo o número de células de Sertoli, estabelecido no período de desenvolvimento testicular, o principal responsável pelas dimensões e produção espermática.

Com relação à análise histológica dos testículos, verificou-se manutenção das características morfológicas gerais. O padrão de organização do epitélio seminífero se apresentou sem alterações evidentes, em qualquer comparação.

A análise morfométrica do diâmetro dos túbulos seminíferos e da altura do epitélio germinativo (Tabela 3) não demonstrou diferenças, muito embora existam, normalmente, correlações positivas entre diâmetro e atividade espermatogênica (SINHÁ-HIKIM et al., 1985). A ausência de diferenças quanto à altura do epitélio e à disposição celular não indica alterações da qualidade da espermatogênese.

Tabela 3. Morfometria do diâmetro tubular (DT) (μm) e altura do epitélio seminífero (AES) (μm) avaliados em 120 túbulos/rato, dos grupos sedentário-controle (SC), sedentário-cafeteria (SCa), treinado-controle (TC) e treinado-cafeteria (TCa). Dados expressos como média ± desvio-padrão (n = 7 grupo⁻¹).

| Variáveis | SC | SCa | TC | TCa |
|-----------------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| DT ¹ (μm) | 277,80 ± 13,12 | 266,89 ± 8,85 | 268,18 ± 10,30 | 263,06 ± 8,47 |
| AES ² (μm) | 73,99 ± 4,37 | 76,29 ± 2,38 | 75,97 ± 3,06 | 72,06 ± 5,36 |

^{1,2}Para todas as comparações p > 0,05.

À identificação do estágio VIII do CES (Figura 2) seguiu-se a contagem dos tipos celulares, apresentados na Tabela 4. Verificou-se um aumento do número de nucléolos de células de Sertoli na comparação entre SC e SCa ($p < 0,05$). Redução foi observada no número de espermatogônias do tipo A, quando se comparou o efeito do treinamento físico (SC x TC e SCa x TCa; $p < 0,01$) não significando, necessariamente, piora do rendimento da espermatogênese. Redução também foi observada no número de espermátides redondas no grupo SCa em relação a SC ($p < 0,05$) porém o treinamento físico teve efeito positivo na contagem dessas células, como se observa na comparação SCa x TCa ($p < 0,01$).

Tabela 4. Números corrigidos de células germinativas e nucléolos de células de Sertoli por secção transversal de túbulos seminíferos do estágio VIII do ciclo do epitélio seminífero para os grupos sedentário-controle (SC), sedentário-cafeteria (SCa), treinado-controle (TC) e treinado-cafeteria (TCa). Valores apresentados como média \pm desvio-padrão ($n = 7$ grupo $^{-1}$).

| Variáveis | SC | SCa | TC | TCa |
|--|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| Nucléolos de células de Sertoli ¹ | 14,37 \pm 1,24 | 16,59 \pm 1,63 | 14,17 \pm 1,34 | 15,00 \pm 1,73 |
| Espermatogônias tipo A ² | 9,40 \pm 2,01 | 10,88 \pm 1,26 | 5,79 \pm 0,62 | 7,33 \pm 2,33 |
| Espermáticos primários em paquíteno ³ | 50,99 \pm 5,19 | 46,68 \pm 3,38 | 48,43 \pm 3,27 | 49,79 \pm 5,59 |
| Espermátides redondas ⁴ | 139,78 \pm 16,92 | 119,04 \pm 14,86 | 138,56 \pm 9,40 | 148,83 \pm 13,58 |

¹SC x SCa e SCa x TC ($p < 0,05$). ²SC x TC e SCa x TCa ($p < 0,01$); SCa x TC ($p < 0,001$). ³SCa x TCa ($p < 0,01$). ⁴SC x SCa ($p < 0,05$); SCa x TCa ($p < 0,01$).

³Para todas as comparações $p > 0,05$. ⁴SC x SCa ($p < 0,05$); SCa x TCa ($p < 0,01$).

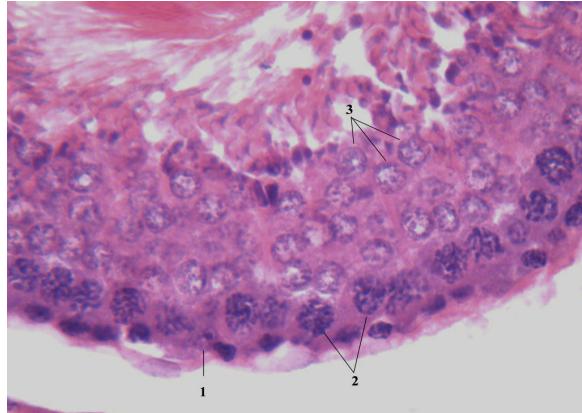


Figura 2. Fotomicrografia: túbulo seminífero no estágio VIII do CES. HE. (1) Célula de Sertoli; (2) espermáticos primários em paquíteno; e (3) espermátides redondas. Rato do grupo Sedentário-Cafeteria. HE. Aumento de 1000x.

As razões celulares para o estágio VIII do CES têm seus valores apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Razões entre números celulares corrigidos obtidos do estágio VIII do ciclo do epitélio seminífero: capacidade total de suporte das células de Sertoli (CTCS), índice mitótico (IMi), índice meiótico (IMe) e rendimento geral da espermatogênese (RGE). Resultados para os grupos sedentário-controle (SC), sedentário-cafeteria (SCa), treinado-controle (TC) e treinado-cafeteria (TCa). Valores apresentados como média \pm desvio-padrão ($n = 7$ grupo $^{-1}$).

| Variáveis | SC | SCa | TC | TCa |
|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| CTCS ¹ | 9,74 \pm 1,05 | 7,28 \pm 1,40 | 9,83 \pm 0,90 | 9,96 \pm 0,58 |
| IMi ² | 5,73 \pm 1,88 | 4,35 \pm 0,67 | 8,47 \pm 1,26 | 7,21 \pm 1,78 |
| IMe ³ | 2,75 \pm 0,24 | 2,57 \pm 0,39 | 2,86 \pm 0,10 | 3,00 \pm 0,11 |
| RGE ⁴ | 15,43 \pm 3,66 | 11,20 \pm 2,64 | 24,19 \pm 3,18 | 21,49 \pm 4,80 |

¹SC x SCa, SCa x TC, SCa x TCa ($p < 0,001$). ²SC x TC ($p < 0,05$); SCa x TC ($p < 0,001$); SCa x TCa ($p < 0,01$). ³SCa x TCa ($p < 0,05$). ⁴SC x TC, SCa x TC e SCa x TCa ($p < 0,001$). ⁴SC x TCa ($p < 0,05$).

Sendo o número de células germinativas, principalmente o número de espermátides, suportadas por uma única célula de Sertoli, o melhor indicativo de sua eficiência e da produção espermática, nota-se uma redução significativa da capacidade total de suporte das células de Sertoli do grupo SCa em relação ao grupo SC, demonstrando um possível efeito negativo da dieta. Por outro lado, para esse mesmo parâmetro, observou-se um aumento da capacidade quando se compararam os grupos TCa e SCa, o que nos permite inferir que o treinamento físico influenciou positivamente na eficiência das células de Sertoli. O número destas é estabelecido durante o período pré-puberal e determina o tamanho final do testículo e o número de espermatozoides produzidos em animais adultos (ORTH et al., 1988). Isto ocorre devido ao fato que as divisões das células de Sertoli terminam antes da puberdade, tornando-se uma população estável, além de terem capacidade de suporte de células germinativas limitado, sendo esta característica espécie-específica. É possível que a obesidade no grupo SCa tenha alterado a quantidade de células de Sertoli devido a uma alteração do equilíbrio hormonal, tendo o treinamento físico um efeito positivo pelo estímulo à produção de testosterona endógena.

Em relação ao rendimento geral da espermatogênese (Figura 3), verificamos um aumento significativo ao se avaliar o efeito do treinamento físico sobre os ratos, independente da dieta recebida (SC x TC; SCa x TCa). Apesar de não-significativo, existe uma redução do rendimento ao se comparar os grupos SCa em relação a SC, muito embora o exercício possa ter um efeito positivo, aumentando o rendimento nos ratos que receberam dieta cafeteria. Da mesma

forma, observa-se o possível efeito negativo da dieta ao se comparar a redução do rendimento do grupo TCa em relação a TC, apesar de não-significativo.

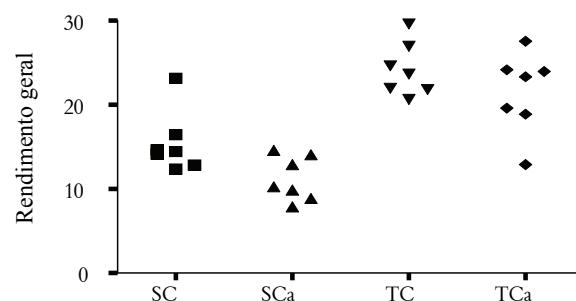


Figura 3. Comparação entre o rendimento geral da espermatogênese, entre os grupos. Observa-se efeito positivo do treinamento físico sobre este parâmetro.

Percebe-se na Tabela 5 que houve aumento do índice mitótico na comparação dos efeitos do treinamento físico (SC x TC; SCa x TCa) e aumento do índice meiótico para a comparação SCa e TCa. Seus dados foram utilizados para produzir a Tabela 6, que apresenta os resultados em porcentagens para esses índices e representam a eficiência do processo frente ao potencial teórico de células esperadas, uma vez que ocorrem apoptoses durante as divisões celulares. Para se obter valores referentes às perdas celulares, subtraiu-se a porcentagem do índice de 100%; por exemplo: para o grupo SC, a média do índice mitótico foi 8,96%, representando um total de perdas celulares de 91,04%. Dessa forma, quanto maior o índice, menores são as perdas celulares. Observa-se que o grupo TC apresentou o maior índice mitótico e o grupo TCa o maior índice meiótico, em concordância ao observado na Tabela 5, com os mesmos resultados na comparação estatística. Analisando do ponto de vista de perdas celulares, o grupo SCa teve as maiores perdas celulares nos dois índices.

Tabela 6. Índices mitótico e meiótico em porcentagens (%). Resultados para os grupos sedentário-controle (SC), sedentário-cafeteria (SCa), treinado-controle (TC) e treinado-cafeteria (TCa). Valores apresentados como média \pm desvio-padrão ($n = 7$ grupo $^{-1}$).

| Variáveis | SC | SCa | TC | TCa |
|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| IMi ¹ (%) | 8,96 \pm 2,94 | 6,80 \pm 1,05 | 13,24 \pm 1,97 | 11,27 \pm 2,78 |
| IMe ² (%) | 68,63 \pm 5,91 | 64,16 \pm 9,85 | 71,56 \pm 2,45 | 74,92 \pm 2,71 |

¹SC x TC ($p < 0,05$); SCa x TC ($p < 0,001$); SCa x TCa ($p < 0,01$). ²SCa x TCa ($p < 0,05$).

Em mamíferos, a apoptose de células germinativas é parte integral da espermatogênese, ocorrendo normalmente em várias fases do

desenvolvimento (BLANCO-RODRÍGUEZ; MARTÍNEZ-GARCÍA, 1996).

O equilíbrio entre proliferação e apoptose desempenha papel fundamental na regulação da população de células germinativas no epitélio seminífero, mantendo a homeostasia do processo espermatogênico, refletindo diretamente na produção espermática diária, característica de cada espécie (CLERMONT, 1972; RUSSELL et al., 1990). Particularmente na fase espermatogonal, o mecanismo homeostático de regulação é considerado densidade-dependente, limitando a quantidade de células germinativas que entram na fase meiótica a um número que possa ser suportado pelas células de Sertoli (DE ROOIJ; LOK, 1987; DE ROOIJ, 1998). Por outro lado, o mecanismo de regulação numérica das células germinativas pode ser traduzido como uma competição por fatores de crescimento ou outros fatores importantes necessários para a sequência de desenvolvimento destas células (JACOBSON et al., 1997). A apoptose também elimina células com possíveis defeitos ou contendo mutações no DNA. As degenerações espontâneas resultam em perdas de cerca de 75% do potencial teórico esperado de espermatozoides maduros de roedores (CLERMONT, 1972; DE ROOIJ; LOK, 1987). Considerando que o rato apresenta 6 gerações de espermatogônias diferenciadas, o número teórico esperado seria 64 espermatócitos para cada espermatogônia A₁. Nossos resultados indicam que o índice mitótico do grupo SCa foi de 4,35 o que corresponde a perda celular na ordem de 93% enquanto que no grupo TCa foi de 7,21 correspondendo a 89%.

Durante a fase meiótica as perdas foram menores, considerando que para cada espermatócito, 4 espermátides são formadas. Diferença significativa foi observada ao se comparar o efeito do treinamento físico em ratos dos grupos cafeteria, com uma redução das perdas celulares de 36 para 25%, indicando mais um possível efeito benéfico do exercício.

Conclusão

A dieta de cafeteria é um modelo que produziu obesidade experimental em ratos, sendo que o treinamento físico de intensidade moderada não reduziu de forma significativa este quadro. Apesar de não haver influência da obesidade e/ou treinamento físico sobre o peso e morfologia testicular, bem como sobre o diâmetro e altura do epitélio seminífero, verificamos que a obesidade interfere na capacidade total de suporte das células de Sertoli. Independente da

dieta verificou-se efeito positivo do treinamento físico, o qual promove maior rendimento geral da espermatogênese.

Referências

ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. *The Anatomical Record*, v. 94, n. 2, p. 238-248, 1946.

AMANN, R. P. Sperm production rates. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDEMARK, N. L. (Ed.). *The testis*. New York: Academic Press, 1970. p. 433-482, v. 1, cap. 7.

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between Lee index and carcass fat content in weaning and adult female rats with hypothalamic lesions. *The Journal of Endocrinology*, v. 40, n. 4, p. 527-528, 1968.

BLANCO-RODRÍGUEZ, J.; MARTÍNEZ-GARCÍA, C. Spontaneous germ cell death in the testis of the adult rat takes the form of apoptosis: re-evaluation of cell types that exhibit the ability to die during spermatogenesis. *Cell Proliferation*, v. 29, n. 1, p. 13-31, 1996.

BURNEIKO, R. C. M.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M.; RODRIGUES, H. G.; EBAID, G. M. X.; FAINE, L. A.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C.; NOVELLI, E. L. B. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food and Chemical Toxicology*, v. 44, n. 7, p. 1167-1172, 2006.

CHAPADOS, N.; COLLIN, P.; IMBEAULT, P.; CORRIVEAU, P.; LAVOIE, J. M. Exercise training decreases in vitro stimulated lipolysis in a visceral (mesenteric) but not in the retroperitoneal fat depot of high-fat-fed rats. *The British Journal of Nutrition*, v. 100, n. 3, p. 518-525, 2008.

CHEUNG, C. C.; THORNTON, J. E.; NURANI, S. D.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. A reassessment of leptin's role in triggering the onset of puberty in the rat and mouse. *Neuroendocrinology*, v. 74, n. 1, p. 12-21, 2001.

CLERMONT, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiological Reviews*, v. 52, n. 1, p. 198-236, 1972.

CLERMONT, Y.; MORGENTALER, H. Quantitative study of spermatogenesis in the hypophysectomized rat. *Endocrinology*, v. 57, p. 369-382, 1955.

DE LIRA, C. A. B.; VANCINI, R. L.; IHARA, S. S. M.; DA SILVA, A. C.; ABOULAFIA, J.; NOUAILHETAS, V. L. Aerobic exercise affects C57BL/6 murine intestinal contractile function. *European Journal of Applied Physiology*, v. 103, n. 2, p. 215-223, 2008.

DE ROOIJ, D. G. Stem cells in the testis. *International Journal of Experimental Pathology*, v. 79, n. 2, p. 67-80, 1998.

DE ROOIJ, D. G.; LOK, D. Regulation of the density of spermatogonia in the seminiferous epithelium of the Chinese hamster: II. Differentiating spermatogonia. *The Anatomical Record*, v. 217, n. 2, p. 131-136, 1987.

DUFLOTH, D. L.; MORRIS, M.; MICHELINI, L. C. Modulation of exercise tachycardia by vasopressin in the nucleus tractus solitarius. *American Journal of Physiology*, v. 273, n. 4, p. 1271-1282, 1997.

ECKEL, L. A.; MOORE, S. R. Diet-induced hyperphagia in the rat is influenced by sex and exercise. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 287, n. 5, p. 1080-1085, 2004.

ESTADELLA, D.; OYAMA, L. M.; DAMASO, A. R.; RIBEIRO, E. B.; OLLER DO NASCIMENTO, C. M. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary an exercised rats. *Nutrition*, v. 20, n. 2, p. 218-224, 2004.

FOSTER, D. L.; NAGATANI, S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biology of Reproduction*, v. 60, n. 2, p. 205-215, 1999.

FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. The testis of domestic mammals. In: MARTÍNEZ-GARCIA, F.; REGADERA, J. (Ed.). *Male Reproduction: A Multidisciplinary Overview*. 1st ed. Madrid: Churchill Communications, 1998. p. 198-219.

FRISCH, R.; REVELLE, R. Height and weight at menarche and a hypothesis of critical body weights and adolescent events. *Science*, v. 169, n. 943, p. 397-399, 1970.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *Journal of Pediatrics*, v. 83, n. 5, p. 192-203, 2007.

GODINHO, C. L. *Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (Felis domestica) sexualmente maduros*. 1999. 80f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular), Departamento de Morfologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

HESS, R. A.; COOKE, P. S.; BUNICK, D.; KIRBY, J. D. Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli cell and germ cell number. *Endocrinology*, v. 132, p. 2607-2613, 1993.

HESS, R. A.; SCHAEFFER, D. J.; EROSCHENKO, V. P.; KEEN, J. E. Frequency of the stages in the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Biology of Reproduction*, v. 43, n. 3, p. 517-24, 1990.

IMBEAULT, P.; SAINT-PIERRE, S.; ALMÉRAS, N.; TREMBLAY, A. Acute effects of exercise on energy intake and feeding behaviour. *The British Journal of Nutrition*, v. 77, n. 4, p. 511-521, 1997.

IWAMOTO, J.; YEH, J. K.; ALOIA, J. F. Differential effect of treadmill exercise on three cancellous bone sites in the young growing rat. *Bone*, v. 24, p. 163-69, 1999.

JACOBSON, M. D.; WEIL, M.; RAFF, M. C. Programmed cell death in animal development. *Cell*, v. 88, n. 3, p. 347-354, 1997.

JÉQUIER, E. Pathways to obesity. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 26, n. 2, p. 12-17, 2002.

KRETSCHMER, B. D.; SCHELLING, P.; BEIER, N.; LIEBSCHER, C.; TREUTEL, S.; KRÜGER, N.; SCHOLZ, H. P.; HAUS, A. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. **Life Sciences**, v. 76, n. 14, p. 1553-1573, 2005.

LEBLOND, C. P.; CLERMONT, Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 55, n. 4, p. 548-573, 1952.

MILAGRO, F. I.; CAMPIÓN, J.; MARTINEZ, A. Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. **Obesity**, v. 14, n. 7, p. 1118-1123, 2006.

ORTH, J. M.; GUNSALOS, G. L.; LAMPERT, A. A. Evidence from Sertoli cell depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. **Endocrinology**, v. 122, n. 3, p. 787-794, 1988.

PLANAS, B.; PONS, S.; NICOLAU, M. C.; LÓPEZ-GARCIA, J. A.; RIAL, R. Morphofunctional changes in gastrointestinal tract of rats due to cafeteria diet. **Revista Española de Fisiología**, v. 48, n. 1, p. 37-43, 1992.

RUSSELL, L. D.; SINHÁ-HIKIM, A. P.; ETTLIN, R. A.; CLEGG, E. D. **Evaluation of the testis: Histological and Histopathological**. 1st ed. Clearwater: Cache River Press, 1990. p. 286.

SCOMPARIN, D. X.; GRASSIOLLI, S.; MARÇAL, A. C.; GRAVENA, C.; ANDREAZZI, A. E.; MATHIAS, P. C. F. Swim training applied at early age is critical to adrenal medulla catecholamine content and to attenuate monosodium-L-glutamate-obesity onset in mice. **Life Sciences**, v. 79, n. 22, p. 2151-2156, 2006.

SEGATELLI, L. R.; FRANÇA, P. F. F.; PINHEIRO, C. C. D.; ALMEIDA, M.; MARTINEZ, F. E. M. Spermatogenic cycle length and spermatogenic efficiency in the Gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Journal of Andrology**, v. 25, n. 6, p. 872-880, 2004.

SEFCÍKOVÁ, Z.; HÁJEK, T.; LENHARDT, L.; RACEK, L.; MOZES, S. Different functional responsibility of the small intestine to high-fat/high-energy diet determined the expression of obesity-prone and obesity-resistant phenotypes in rats. **Physiological Research/Academia Scientiarum Bohemoslovaca**, v. 57, n. 3, p. 467-474, 2008.

SHARPE, R. M.; FRANKS, S. Environment, lifestyle and infertility—an inter-generational issue. **Nature Cell Biology**, v. 4, suppl. 1, p. 33-40, 2002.

SINHÁ-HIKIM, A. P.; CHAKRABORTY, J.; JHUNJHUNWALA, J. S. Germ cell quantitation in human testicular biopsy. **Urological Research**, v. 13, n. 3, p. 111-115, 1985.

WADE, G. N.; SCHNEIDER, J. E. Metabolic fuels and reproduction in female mammals. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 16, n. 2, p. 235-272, 1992.

WADE, G. N.; SCHNEIDER, J. E.; LI, H. Y. Control of fertility by metabolic cues. **The American Journal of Physiology**, v. 270, n. 1, p. 1-19, 1996.

WEST, D. B.; YORK, B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. **American Journal of Nutrition**, v. 67, n. 3, p. 505-512, 1998.

YANG, A. J.; CUI, H.; CUI, Y.; YE, H. C.; LI, Y. Effects on development of the testicle in diet induced obesity rats. **Wei Sheng Yan Jiu**, v. 34, n. 4, p. 477-479, 2005.

Received on July 15, 2009.

Accepted on October 30, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.